

Tartu Ülikool  
Loodus- ja täppisteaduste valdkond  
Ökoloogia ja Maateaduste Instituut  
Mükoloogia õppetool

Triin Tago

## **MUDELORGANISMIDE OTSINGUIL**

Bakalaureusetöö

Juhendaja: dotsent Tiina Randlane

Tartu 2016

Infoleht

### **Mudelorganismide otsingul**

Minu töö on kaks eesmärki – esiteks, tutvustan mudelorganisme üldisemalt ja teiseks, uurin millised liigid oleksid võimalikud mudelorganismide kandidaadid samblikke moodustavate seente hulgas. Mudelorganismid on organismid, keda kasutatakse erinevate bioloogiliste protsesside kirjeldamiseks. Mudelorganismide puhul on oluline, et saadud tulemused oleksid ülekantavad ka teistele organismidele ja et nad aitaksid, kirjeldada ka teistes organismides esinevaid protsesse. Mudelorganisme leidub nii eukarüootide kui prokarüootide hulgas. Kirjanduse põhjal annan ülevaate genoomika uuringutest samblikel ja ning raskustest sümbiontsete organismide kasvatamisel laboratoorsetes tingimustes. Oma töös uurin kas ja kuidas sobiksid samblikke moodustavate seente mudelorganismideks liigid *Xanthoria parietina*, *Lobaria pulmonaria*, *Peltigera membranacea* ja *Cladonia grayi*.

**Märksõnad:** mudelorganism • samblike moodustavate seente genoomika • *Xanthoria parietina* • *Lobaria pulmonaria* • *Peltigera membranacea* • *Cladonia grayi*

**CERCS teadusalad:** BIOMEDITSIIN B225 Taimegeneetika

## Abstract

### **Searching for model organisms**

There are two aims in this study – firstly, to introduce model organisms in general, and secondly, to examine which species might be model organisms among lichenized fungi. Model organisms are organisms which are used as models to describe different biological processes. It is important that results achieved with model organisms can be transferred to other organisms or help describe processes taking place in other organisms. Model organisms have been found among procaryotes and eucaryotes. I present an overview about the research dealing with genomics of lichen-forming fungi and about difficulties in cultivating symbiotic organisms in laboratory conditions. Furthermore, I examine whether and how lichenized fungi *Xanthoria parietina*, *Lobaria pulmonaria*, *Peltigera membranacea* and *Cladonia grayi* fit to model organisms.

**Key words:** model organism • lichenized fungi genomics • *Xanthoria parietina* • *Lobaria pulmonaria*, *Peltigera membranacea* • *Cladonia grayi*

**CERCS research fields:** *BIOMEDICAL SCIENCES B225 Plant genetics*

# Sisukord

Infoleht.....	2
Abstract.....	3
<b>1. Sissejuhatus .....</b>	<b>5</b>
<b>2. Mudelorganismid .....</b>	<b>6</b>
2.1. Mõiste ja valik .....	6
2.2. Katseorganismide, mudelorganismide ja indikaatororganismide erinevus .....	6
2.3. Mudelorganismide kasutamise ajalugu.....	7
2.4. Mudelorganismide näiteid erinevatest organismirühmadest.....	8
2.4.1. Bakterid.....	8
2.4.2. Protistid .....	10
2.4.3 Seened .....	10
2.4.4. Taimed.....	12
2.4.5. Loomad.....	13
<b>3. Genoomika uuringud samblikel .....</b>	<b>16</b>
<b>4. Mudelorganismide võimalikud kandidaadid samblike hulgas.....</b>	<b>18</b>
4.1. <i>Xanthoria parietina</i> – harilik korpsamblik, harilik seinakorp .....	18
4.2. <i>Lobaria pulmonaria</i> – harilik kopsusamblik .....	20
4.3. <i>Peltigera membranacea</i> – õhuke kilpsamblik.....	22
4.4. <i>Cladonia grayi</i> – Gray porosamblik.....	24
<b>5. Kokkuvõte .....</b>	<b>26</b>
<b>6. Summary .....</b>	<b>28</b>
<b>7. Kasutatud kirjandus: .....</b>	<b>30</b>
Lihthitsents.....	33
Lisad .....	34
Lisa 1. Kasutatavaid mudelorganisme taimede hulgas .....	35
Lisa 2. Kasutatavaid mudelorganisme loomade hulgas.....	35

# 1. Sissejuhatus

Maailmas on teada umbes 5600 prokarüootset liiki (Microbial Functional Genomics) ja 8,7 miljonit eukarüootset liiki (Nature). Neid kõiki organisme pole võimalik põhjalikult geneetiliselt uurida ja seetõttu on kasutusele võetud mudelorganismid. Mudelorganisme leidub nii prokarüootide kui eukarüootide – protistide, seente, taimede ja loomade hulgas (Päcurar 2009). Hoolimata elu väga suurest mitmekesisusest saab organismides toimuvaid universaalseid põhimõtteid kirjeldada uurides põhjalikult vaid väheseid eluvorme, mis sobivad eksperimentaalseteks uuringuteks (Müller jt 2010). Mudelorganismid on sageli väikesed, lühikese generatsiooniajaga, neid on kerge säilitada, nendega on lihtne suurtes kogustes manipuleerida ja teostada sõeluuringuid, mis hõlbustab teadustööd laboris (Päcurar 2009). Mitte kõik katsetes kasutatavad organismid ei ole saanud mudelorganismideks (Leonelli jt 2013). Samblikke moodustavad seened on sümbiontsed organismid, selliseid organisme seni mudelorganismide hulgas pole. Teadlaste hulgas ei ole üksmeelt samblikke moodustavate seente mudelorganismi(de) osas, võttes arvesse nende genoomi uuringuid. Käesoleval ajal viiakse läbi mitmeid sambliku sümbiontide genoomi sekveneerimise projekte, milledes kasutatakse kas kultiveeritavaid sümbionte või looduses kasvavaid talluseid (Grube jt 2014). Lihheniseerunud seente bioloogiliste protsesside paremaks tundmaõppimiseks ja ressursside kokkuhoidmiseks oleks oluline leida mudelorganismid ka selles organismirühmas. Kuigi samblikud on fenotüüpiliselt hästi kirjeldatud, on neid moodustavate sümbiontide geneetilisi uuringuid teostatud suhteliselt vähe. Lihheniseerunud seente genoomi ulatuslikemate uuringutega alustati mõned aastad tagasi (Grube jt 2014). Mõlemast sümbiootilisest partnerist iseseisva samblikutalluse *in vitro* uuesti sünteesimine on üks suuremaid väljakutseid eksperimentaalses lihhenoloogias, aga isegi kui sümbiontide resünteis põhimõtteliselt õnnestub, siis iseloomuliku morfoloogiaga talluse arenemine standardsetes laboritingimustes sageli ebaõnnestub (Grube jt 2014).

Minu töö on kaks eesmärki – esiteks, tutvustan mudelorganisme üldisemalt ja teiseks, uurin millised liigid oleksid võimalikud mudelorganismide kandidaadid samblikke moodustavate seente hulgas. Vaatlen, kuidas võiksid mudelorganismideks sobida *Xanthoria parietina*, *Lobaria pulmonaria*, *Peltigera membranacea* ja *Cladonia grayi*.

## **2. Mudelorganismid**

### **2.1. Mõiste ja valik**

Enamik meie teadmisi pärilikkusest, arengubioloogiast, füsioloogiast ning rakuliste ja molekulaarbioloogiliste protsesside alustest pärineb mudelorganismide uuringutest. Hoolimata elu väga suurest mitmekesisusest saab organismides toimuvaid universaalseid põhimõtteid kirjeldada uurides põhjalikult vaid väheseid eluvorme, mis sobivad eksperimentaalseteks uuringuteks (Müller jt 2010). Eksperimentaalsete katsete tarvis peab olema võimalik kasvatada uuritavaid organisme selgelt defineeritavates laboratoorsetes kasvutingimustes ning oodatavalt peab see tegevus olema odav. Seetõttu on geneetiliste katsete tegemisel väljakujunenud vaid vähesed lemmikorganismid ehk mudelorganismid (Heinaru 2012). Mudelorganismid muutusid biomeditsiinilistes uuringutes oluliseks 20. sajandi lõpus. Nende uurimise eesmärgiks on selgitada välja mehhanisme, mis oleksid kirjeldatavad kõikidel elusolenditel (Tang jt 2015). Mudelorganismid on sageli väikesed, lühikese generatsiooniajaga, neid on kerge säilitada, nendega on lihtne suurtes kogustes manipuleerida ja teostada sõeluuringuid, mis hõlbustab teadustööd laboris (Păcurar 2009). Enamasti on nad kergesti laboris kultiveeritavad, lühikese elutsükliga ja geneetiliselt varieeruvad (Snustad jt 2012). Paljude aastate jooksul on geneetikud töö käigus loonud suure kogu nende organismide mutanttüvesid (Snustad jt 2010). Enamasti on majandus mõjutanud organismide uurimise valikut, näiteks eelistatakse põllumajanduslikult ja inimese tervisega seotud olulisi liike (Păcurar 2009). Mudelorganismi defineeritakse kui geneetilistes katsetes enameelistatud organismi, kellelt saadud katsetulemused on intepreteeritavad ja osaliselt ülekantavad ka teistele liikidele, sealhulgas inimesele (Heinaru 2012).

### **2.2. Katseorganismide, mudelorganismide ja indikaatororganismide erinevus**

Mitte kõik katsetes kasutatavad organismid ei ole saanud mudelorganismideks (Leonelli jt 2013). Lisaks mudelorganismidele kasutatakse uuringutes ka katseorganisme ja ka indikaatororganisme. Alljärgnevalt nende organismide kasutamise erinevustest.

Katsetes kasutatavad organismid, nn. katseorganismid, esindavad saadud tulemustega vaid iseennast. Neid on uuritud seetõttu, et organism ise on huvipakkuv või on selleks uuritavas elusolendis esinev nähtus (Leonelli jt 2013).

Indikaatorliigid on liigid, mis on eriti tundlikud teatud toksiliste ühendite või teatud muude

keskkonnaparameetrite muutuste suhtes, andes keskkonnaseires eelhoiatava ohusignaali. Laialt kasutatavate indikaatorite hulka kuuluvad samblikud, mis näiteks seovad saastunud õhust vihmavette lahustunud ühendeid. Kõrge toksiliste ainete kontsentratsioon hävitab tundlikumad liigid, seega peegeldab samblike levik ja arvukus saasteainete levikut reostusallikate (näiteks metallurgiatehaste) läheduses (Primack jt 2008).

Mudelorganismidel on järgnevad võtmeomadused.

Esiteks – nad esindavad alati endast suuremat gruppi organisme ja on aluseks protsesside selgitamisel, mida võib üle kanda mitmetele eri tüüpi organismidele, eriti seesuguste protsesside puhul, mille molekulaarsed alused on selgesti väljendunud. Kuna mudelorganisme kasutatakse inimgenoomi projekti ja biomeditsiiniliste uuringute käigus, peaksid vaadeldavad protsessid olema ülekantavad ka kõrgematele organismidele, sealhulgas inimesele. Neid organisme ei uurita mitte ainult sellepärast, et nad ise pakuvad huvi, vaid lisaväärtuse pärast, mis tekib nende abil protsesside uurimisel, mida on võimalik üldistada stiilis 'kala on konn...on kana...on hiir'(Leonelli jt 2013).

Teiseks – mudelorganismid on valitud ja kasutusel, et uurida kogu organismi ehk teisisõnu – kui mudelit, mis hõlmab elusorganismide erinevaid süsteeme ja protsesse, sealhulgas geneetikat, arengut, füsioloogiat, evolutsiooni ja ökoloogiat. Selline lähenemine võimaldab saavutada teaduse ühe peamise pikaajalise eesmärgi – edendada suuremahulist võrdlevat tööd, ühendades erinevate liikide uurimisel erinevaid valdkondi (Leonelli jt 2013).

Kolmandaks – mudelorganismidel on omadused, mis tagavad nende sobivuse geneetilisteks katseteks: väike füüsiline ja genoomiline suurus, madalad aretus-, säilitus- ja transpordikulud, lühike generatsiooniaeg ja elutsükel, kõrge sigivus, suur mutantsete vormide arv või suur vastuvõtlikkus tehnilistele geneetilistele modifikatsioonidele. Mudelorganismid on väljatöötatud kasutades erinevaid protsesse, mis võimaldavad luua ühe või enam tüvesid edaspidi toimuvate teadusuuringute jaoks. Standardtüve refereeritakse paradoksaalselt kui 'metsiktüüpi', samas on ta laboratoorselt aretatud organism, nii et tema iseloomulikud omadused on teadusuuringuteks sobivad ja neid on võimalik taasesitada väheste varieeruvustega põlvkondade vältel, näiteks kloonimisel (Leonelli jt 2013).

### **2.3. Mudelorganismide kasutamise ajalugu**

Looduse mitmekesisusest huvitatud teadlased olid 18. ja 19. sajandil seotud väga erinevate

organismide uurimisega. See oli aeg kui Linné töötas välja oma klassifikatsiooni ja kui tekkisid varased teadmised elutsükli, loodusliku valiku käigus toimuva evolutsiooni, tsütogeneetika, embrüoloogia ja rakuteooria kohta. 19. sajandi teisel poolel korraldatud katsed taimede ja loomadega andsid esmaseid teadmisi metabolismist, embrüogeneesi mehhanismidest, loomade ja taimede füsioloogiast ning fotosünteesist. Molekulaarbioloogia varasel tekkimisajal (1940-1950 aastatel) rakendati reduktsionismi selleks, et käsitleda suurt hulka küsimusi raku molekulaarsel tasemel töötamise kohta. Bioloogid vähendasid ülesannete keerukust kahel viisil: esiteks, keskendudes mõnede kesksetele molekulaarsetele mehhanismidele ja teiseks, valides lihtsamaid organisme, millede abil teadustööd läbi viia (Päcurar 2009).

Eelmisel sajandil eristatakse kolme mudelorganismide kasutamise etappi. Esimesel etapil (1910-1937) olid hiir, mais ja äädikakärbes kõige silmapaistvamad ja enim kasutatud mudelorganismid. Teisel etapil (1930-1950ndad aastad) pöördus teadlaskonna tähelepanu mikroorganismidele, näiteks bakterile *Escherichia coli* (soolekepike) ja seentele – *Neurospora crassa* (leivahallitusseen) *Aspergillus nidulans* (hallitusseen) ja *Saccharomyces cerevisiae* (pagaripärm) (Päcurar 2009).

Peale 1960ndaid ilmnis geneetikutel huvi loomade ja taimede viiruste, imetajate kultiveeritud rakkude ja hulkraksete organismide vastu. Kõige silmapaistvamad mudelorganismid sel etapil olid *Caenorhabditis elegans* (varbuss) ja *Arabidopsis thaliana* (müürlook) (Päcurar 2009).

Praegu on üha enam oluline praktiline küsimus, kuidas me saaksime kasutada mudelorganisme nii, et näiteks uurida ja mõõta globaalse soojenemise mõju bioloogilisele mitmekesisusele ja evolutsioonile. Mitmetel mudelorganismidel – nende hulgas *Nematostella vectensis* (meriroom), *Saccoclossus kowalevskii* (tammetõruuss), *Populus tremula* (harilik haab), perekond *Aquilegia* (kurekell) – on potentsiaali, et olla samaaegselt ka 'valvur' või indikaatorliik, kuna nende tundlik organism annab tagasisidet elupaikade muutlikkusest. *P. tremula* näiteks on kasutatav mudel, et uurida kliimamuutustele reageerimist (Päcurar 2009).

## **2.4. Mudelorganismide näiteid erinevatest organismirühmadest**

Mudelorganisme leidub nii prokarüootide kui eukarüootide – protistide, seente, taimede ja loomade hulgas (Päcurar 2009).

### **2.4.1. Bakterid**

Prokarüootsed organismid on lihtsa üldplaani tõttu ideaalsed mudelid, et nende abil uurida erinevaid biokeemilisi ja molekulaarbioloogilisi fundamentaalseid aspekte (Cooper jt 2009). Kuni 1940.



aastani uuriti mitmesuguseid bakteriliike eelkõige meditsiinilisel eesmärgil. Bakterite geneetiline analüüs sai võimalikuks tänu bakterite laboratoorsete kasvumeetodite täiustamisele, mistõttu sai eraldada ja eristada mutante. Sama tähtis oli bakterigeneetikas suguliste protsesside avastamine (Heinaru 2012).

Mudelorganismideks on olnud järgmised bakterid:

- soolekepike *Escherichia coli* – molekulaargeneetikas kõige sagedamini kasutatav mudelorganism,
- *Bacillus subtilis* – endospore moodustavate Gram positiivsete bakterite mudelorganism, *Caulobacter crescentus* – bakter, mida kasutatakse, et uurida rakkude diferentseerumist,
- *Mycoplasma genitalium* – väikseim organism,
- *Vibrio fischeri* – bioluminesseeruv bakter, kes moodustab bakteri-looma sümbioosi koos *Euprymna scolopes* kalmaariga,
- *Synechocystis* – fotosünteesiv tsüanobakter, mida kasutatakse laialdaselt fotosünteesi uuringutes,
- *Pseudomonas fluorescens* – mullabakter, mis annab kergesti laboris erinevaid tüvesid (Govind 2011).

Kõige põhjalikumalt uuritud bakteriliik ongi *Escherichia coli*, kes on pikka aega olnud soositud organism molekulaargeneetika alusmehhanismide uurimiseks. Enamus meie praegusest molekulaarbioloogia kontseptsioonidest – sealhulgas DNA-replikatsioon, valgusüntees, transkriptsioon, geneetiline kood, geenide ekspressioon – pärinevad selle bakteri abil tehtud uuringutest (Cooper jt 2009; Păcurar 2009). Bakterit *E. coli* on lihtne käsitseda, kasvatada ja manipuleerida, ning sellepärast on ta ideaalne mudelorganism (Vaara jt. 2012). Näiteks *E. coli* genoom sisaldab umbes 4,6 miljonit aluspaari ja umbes 4300 geeni. Inimese genoom on umbes tuhat korda suurem (umbes 3 miljardit aluspaari) ja arvatavalt sisaldab 20 000 kuni 25 000 geeni. *E. coli* genoom sekveneeriti täielikult aastal 1997; genoomi väiksus annab geneetilistes uuringutes selge eelise (Cooper jt 2009). Molekulaarsed uuringud on hõlpsad *E. coli* kiire kasvu tõttu kontrollitud laboritingimustes. *E. coli* jaguneb optimaalsetes kasvutingimustes iga 20 minuti jooksul. Lisaks on *E. coli* klonaalset populatsiooni, milles kõik rakud on ühe raku jagunemise tulemus, võimalik kasvatada pooltahkel agarsöötmel. Kuna üleöö kasvanud *Escherichia coli* bakterikultuur sisaldab suurusjärgus  $10^8$  rakku, siis seetõttu on geneetiliselt mutantsete tüvede valimine lihtne ja kiire (Cooper jt 2009).

Paljud geneetika seaduspärasused on selgitatud *Escherichia coli* viiruste uurimisel. Bakteriviiruseid nimetatakse bakteriofaagideks ehk faagideks. Kui bakterite suurus on tavaliselt 1-2 mikromeetrit, siis viiruste diameeter on vaid umbes 100 nanomeetrit. Viirused koosnevad nukleiinhappest ja seda katvast valgulisest kestast ehk kapsiidist, nad pole võimelised iseseisvalt ilma peremeesrakuta paljunema. Viirustest on geneetikute mudelorganismideks olnud kaksikahelalise DNA-ga (dsDNA) faag T4 ja faag lambda ning üksikahelalise DNA-ga (ssDNA) faag  $\phi$ X174 ja filamentne faag MS2. Viiruste eeliseks geneetilisel analüüsil on nende suhteliselt lihtne geneetiline ehitus ja võime anda tohutult arvukalt järglaskonda (Heinaru 2012).

### 2.4.2. Protistid

Mõned eukarüootsete protistide hulka kuuluvad mudelorganismid on:

- *Chlamydomonas reinhardtii* (rohevetikas) – fotosünteesi uurimiseks,
- *Dictyostelium discoideum* (mullas elav limakuliik) – kasutatakse molekulaarbioloogias ja geneetikas, et uurida rakkude kommunikatsiooni, diferentseerumist ja programmeeritud rakusurma,
- *Emiliana huxley* (ainurakne kaltsiumkarbonaadist soomustega merevetikas) – uuritakse kui fütoplanktoni liikide mudelorganismi (Govind 2011).

Protistide mudelorganismide näiteks on *Chlamydomonas reinhardtii*, ainurakne rohevetikas, keda kasutatakse fotosünteesi, viburite ja mootorika, metabolismi regulatsiooni, rakulise äratundmise ja adhesiooni, toitainete puudumise tuvastuse ja paljude muude uuringute teostamiseks. *C. reinhardtii* on geneetiliselt hästi uuritud, paljude tuntud ja kirjeldatud mutantidega. Tema standardtüvi c137 (mt+) pärineb 1945. aastast. *C. reinhardtii* genoom tehti teatavaks oktoobris 2007 (Govind 2011).

### 2.4.3 Seened

Seeni on maailmas kirjeldatud umbes 100 000 (Kirk jt 2008).

Tähtsaimad mudelorganismid seentehulgas on:

- *Ashbya gossypii* (puuvilla patogeen) – oluline rakutsükli ja rakupolaarsuse geneetilistes uuringutes,
- *Aspergillus nidulans* (hallituseen) – kasutatakse geneetilistes uuringutes,

- *Coprinus cinereus* (šampinjonilaadsete hulka kuuluv seen) – kasutatakse seente arengu geneetiliseks uuringuks ja meioosi uurimiseks,
- *Neurospora crassa* (leivahallitusseen) – kasutatakse meioosi, metaboolse regulatsiooni ja ööpäevase rütmi uurimiseks,
- *Saccharomyces cerevisiae* (pagaripärm),
- *Schizophyllum commune* (lõhisleht) – seente tekke mudelorganism,
- *Schizosaccharomyces pombe* (pärmseen) – kasutatakse rakutsükli, rakupolaarsuse, RNAi, tsentromeeride struktuuride, funktsiooni ja transkriptsiooni uurimiseks,
- *Ustilago maydis* (maisi-lendnõgi) – maisitaime patogeen, mida kasutatakse dimorfismi, taimepatogeenide ja transkriptsiooni uuringutes (Govind 2011).

Üherakulised kottseened on laialdaselt kasutatavad mudelorganismid eukarüootse raku uurimisel, kuna seenerakud on loomarakkudega sarnasemad kui taimerakkudega (Päcurar 2009). Kuigi bakterid on olnud hindamatud mudelid rakkude konserveerunud omaduste uurimisel, ei saa neid kasutada eukarüootidele omaste eriliste funktsioonide ja rakustruktuuride uurimisel. Lihtsaimal eukarüoodil üherakulisel pagaripärmil (*Saccharomyces cerevisiae*) on mitmeid katselisi eeliseid bakteri *Escherichia coli* ees ja teda peetakse eukarüootse raku mudelorganismiks (Cooper jt 2009). Sellel organismil on 16 kromosoomi ( $n=16$ ). Ta oli esimene eukarüoot, kes 1996. aastal sekveneeriti. Pärmil genoom koosneb  $12 \times 10^6$  nukleotiidipaari ja sisaldab 6268 geeni. Ta paljuneb nii suguliselt kui ka suguta. Haploidsete rakkude suguta paljunemine toimub pungumise teel (mitoosi abil), diploidsete rakud jagunevad nii mitootiliselt kui meiotiliselt (Heinaru 2012). Pärmel saab laboratoorselt kergesti kasvatada ja uurimisel saab kasutada samu meetodeid, mis *E. coli* puhul on osutunud edukaks. Kuigi pärmid ei replitseeru nii kiiresti kui bakterid, mitte sagedamini kui kahe tunni tagant, saab kergesti kasvatada ühest rakust koloonia. Järelikult pärmel saab kasutada samamoodi kui baktereid erinevate geneetiliste manipulatsioonide läbiviimisel. Need omadused on teinud pärmirakud molekulaarbioloogia seisukohalt kõige enam käsitletavateks eukarüootseteks rakkudeks. Paljudest fundamentaalsetest protsessidest arusaamiseks eukarüootsetes rakkudes (DNA replikatsioon, transkriptsioon, valkude jagunemine, raku jagunemise reguleerimine jne.) on kasutatud pärmiraku mutante (Cooper jt 2009).

*Neurospora crassa* on lõhevärvi oranž leivahallitusseen kottseente hõimkonnast *Ascomycota*. Tal on 7 kromosoomi. Aastal 2003 sekveneeriti ta genoom täielikult (sisaldab ligi  $43 \times 10^6$  aluspaari ja ligikaudu 10 000 geeni). Geneetika meelisobjektiks sai see organism seetõttu, et tal on suguline

sigimine (seeneniidistiku hüüfides moodustuvad koniidid, mis moodustavad protoperiteetsiumis sugurakud). Ristamistüüpidest A ja a moodustuvad sugurakud ühinevad ning pärast meioosi jäävad meioosi produktid askusesse ehk eeskotti kokku. Askosporid on askuses kindlas järjekorras. Askuses on 8 haploidset askospori, sest pärast meioosi toimub veel üks mitootiline jagunemine (Heinaru 2012).

*Neurospora crassa* on populaarne metabolismi, geeniregulatsiooni, kromosoomide käitumise, DNA parandamise, DNA metülatsiooni, epigeneetilise fenomeni, genoomi kaitstuse, fotobioloogia, tsirkadiaanrütmi, eristamise, arengu ja teiste kõrgemate eukarüootide tähtsate bioloogiliste fenomenide uurimisel (Müller jt 2010).

#### 2.4.4. Taimed

On teada ~ 300 000 liiki maismaataimi, kuid genoomi mudelorganismiseks sobivad neist vaid vähesed (Päcurar 2009).

Mõned neist on:

- *Arabidopsis thaliana* (müürlook) – klassikaline taimede mudelorganism geneetikas ja arengubioloogias,
- kõrrelised – näiteks *Oryza sativa* (riis), *Zea mays* (mais), *Triticum aestivum* (harilik nisu), *Brachypodium distachyon* (aruluste liik) (alternatiiv riisile),
- teised majanduslikult tähtsad põllukultuurid, nagu näiteks: *Gossypium hirsutum* (puuvill), *Glycine max* (sojauba), *Nicotiana tabacum* (tubakas) (Päcurar 2009).

Lisaks neile hästi tuntud taimede mudelorganismidele on mudelitena uuritud veel teisigi taimi (vt Lisa 1)

Taimede genoom erineb loomade genoomist mõnevõrra ning seetõttu on vaja sobivat mudelorganismi ka taimede uuringuks (Cooper jt 2009). *Arabidopsis thaliana* (müürlook) on väike, kiiresti kasvav taim, mis annab viie nädalaga uue põlvkonna. See taim on iseviljastuv, kuid tema erinevaid tüvesid on võimalik laboratoorsetes tingimustes ka ristviljastada ja saada hübriide. Müürloogal pole mingit majanduslikku tähtsust. Tema diploidne genoom ( $2n=10$ ) sisaldab  $157 \times 10^6$  nukleotiidipaari ja 27 706 geeni, milledest väga paljud on ka olulistel põllumajandustaimedel (nt. mais, riis, nisu). Seega saab müürlook olla mudelorganismiks, millega saadud katsetulemused on tõenäoliselt ülekantavad teistele taimedele (Heinaru 2012). *A. thaliana* on kõige populaarsem mudeltaim. Tema väike kasv ja lühike generatsiooniiga hõlbustab kiireid geneetilisi uuringuid,

kindlaks määratud on palju fenotüüpilisi ja biokeemilisi mutante. Müürlook oli esimene taim kelle genoom sekveneeriti. Seda taime on kasutatud taimefüsioloogias, arengubioloogias, molekulaargeneetikas, populatsioonigeneetikas, tsütoloogias ja molekulaarbioloogias (Govind 2011).

## 2.4.5. Loomad

**Selgrootud loomad.** Mitmeid selgrootuid loomi on samuti kasutatud molekulaarbioloogias ja biomeditsiinilistes eksperimentides mudelorganismidena (Govind 2011).

Putukate liike on miljoneid. Putukad on ilmselt maailmas kõige mitmekesisem loomorganismide grupp. Neist *Drosophila melanogaster* (äädikakärbes), võeti geneetika uurimisobjektiks juba enne baktereid ja seeni, 1909. aastal. Äädikakärbe elutsüklil on suhteliselt lühike, umbes 10 päeva 25°C juures. Kärbes on umbes 2 mm pikk ning putukale iseloomulikult on tal kolm paari jalgu ning kahetiivalisele iseloomulikult vaid kaks paari tiibu. Keha on kaetud suhteliselt hästi väljaarenenud närvisüsteemiga seostuvate tundlike karvakeste ja harjastega. Peas on silmad ja tundlad ning tagakehas reproduktiivorganid. Emale äädikakärbes muneb sadu mune. Munadest arenevad vastsed ehk larvid, larvidest moodustuvad nukud, nukkudest täiskasvanud isendid. Seega toimub areng täismoondega (Heinaru 2012). *Drosophila melanogaster* i kasutamise eeliseks on tuhandete selgelt eristatavate fenotüübiliste tunnustega mutantide lihtne saamine. Ta on osutunud arengu-ja käitumisgeneetika uurimustes asendamatuks. Äädikakärbest uurides on 20. sajandi alguses tuletatud paljud fundametaalsed geneetika kontseptsioonid (Cooper jt 2009). *Drosophila melanogaster* i anatoomiline keerukus annab geneetikutele võimaluse uurida, kuidas geenid kontrollivad kehaosade teket. Samuti võimaldab see neil uurida protsesse, kuidas viljastatud munarakk areneb embrüoks ja lõpuks täisealiseks (Snustad jt 2012). Äädikakärbe genoom on sekveneeritud, see sisaldab  $170 \times 10^6$  aluspaari, 13 792 geeni, kõik need asuvad kolmes paaris autosoomides ja ühes paaris sugukromosoomides (Heinaru 2012).

Varbuss, nematood *Caenorhabditis elegans* valiti 1963. aastal Sydney Brenneri poolt mudelorganismiks, tema lihtsuse tõttu, võrreldes teiste hulkraksete organismidega, näiteks äädikakärbsega (*Drosophila melanogaster*). Temas on vähem kui 1000 rakku, mis jagunevad stereotüüpsel viisil, see tähendab, et organismi igat rakku saab taandada munarakuks. Lisaks võimaldab tema elutsüklil käsitleda teda kui mikroobi. Samal ajal on varbussil olemas kõik hulkrakse organismi tunnused nagu näiteks kompleksne organite süsteem, sotsiaalne ja sugulise

käitumise õppimine (Müller jt 2010). Väike (pikkus 1 mm) mullas elav nematood *Caenorhabditis elegans* ehk varbuss on võetud geneetikas loomade arengu uurimise mudelorganismiks. Varbussi elutsükkel munast täiskasvanueani kestab kolm päeva. Teda saab lihtsalt agarsöötmel kasvatada. Ta kasutab toiduks näiteks *Escherichia coli* rakke. *C. elegans* on valdavalt hermafrodiitne organism (leidub ka isaseid indiviide), kus sama organism moodustab sperme ja munarakke ning viljastumine toimub samas organismis. Et see uss on läbipaistev, siis saab temal jälgida rakkude jagunemisi ja organismi arengut. Varbussi genoom on sekveneeritud, sisaldades  $100 \times 10^6$  nukleotiidipaari ja 20 516 geeni. Genoom sisaldab viit paari autosoome ja üht paari sugukromosoome (Heinaru 2012). *Caenorhabditis elegans*'i abil on selgitatud konserveerunud mehhanisme, mis on seotud programmeeritud rakusurmaga, insuliini signalisatsiooni, vananemise ja neurobioloogiaga (Müller jt 2010).

**Selgroogsed loomad.** Sarnaselt selgrootutele loomadele on ka mitmeid selgroogseid loomi kasutatud mudelorganismidena. *Cavia porcellus*'t (merisiga) on kasutanud Robert Koch ja paljud teised varased bakterioloogid bakteriaalsete infektsioonide uurimisel peremeesorganismina. *Cricetus cricetus* (hamster) oli esimene, kelle abil uuriti kala-azari (leishmanioos). *Mus musculus* (koduhiir) on klassikaline mudelselgroogne. *Rattus norvegicus*'t (rändrott) ja *Rattus rattus*'t (kodurott) kasutatakse farmakoloogias ja toksikoloogias mudelorganismina ning ka vähiuuringutes. Rott omab võrreldes hiirega suuremaid organeid ja organellide struktuure ning on kasutusel neuroloogilise mudelina ja esmase rakukultuuride allikana, samuti molekulaarevolutsiooni ja genoomika uuringutes (Govind 2011). *Canis lupus familiaris* (kodukoer) on tähtis hingamissüsteemi ja südameveresoonkonna mudel. *Lepus cuniculus* (halljänest), *Oryctolagus cuniculus* (küülik) ja konnaliik *Rana tigrina* on samuti kasutusel erinevates bioloogilistes ja biomeditsiinilistes eksperimentides (Govind 2011). Hepatotoksilistes uuringutes on mudelorganismidena kasutatud hiirt, rott, jänest ja koera. Konna *Xenopus laevis* (Aafrika küüniskonn) kasutatakse arengubioloogias tema suure embrüo ning tolerantsi tõttu füüsilistele ja farmakoloogilistele manipulatsioonidele (Govind 2011). *Felis domesticus*'t (kodukassi) ja *Felis sylvestris*'t (Euroopa metssassi) kasutatakse neurofüsioloogilistes uuringutes. *Macaca mulatta*'t (reesusmakaak) on kasutatud infektsioonhaiguste ja taju uurimisel. *Gallus gallus*'t (kodukana) on kasutatud arengubioloogilistes uuringutes (Govind 2011). *Danio rerio* (sebrakala) on kujunenud arengugeneetika, neurofüsioloogia ja biomeditsiiniliste uuringute tähtsaimaks mudelorganismiks (Govind 2011). Lisaks neile on mudelorganismidena kasutatud veel teisi selgroogseid loomi (vt

Lisa 2)

1960ndate lõpus sai geneetikas uuringute meelisobjektiks üks akvaariumikaladest sebrakala (*Danio rerio*). See kala annab uue põlvkonna 5-6 kuuga ja tema toitumistingimused on lihtsad. Sebrakala uurimise eeliseks võrreldes teistega oli asjaolu, et ta munarakk on läbipaistev ning viljastumine toimub kehaväliselt. Seega tekkisid head lisavõimalused uurida selle loomakese arengut. Sebrakala genoom sisaldab  $1,6 \times 10^9$  DNA nukleotiidipaari ja 23 524 geeni. Ta on diploidne organism, kellel on 50 kromosoomi (Heinaru 2012).

Sebrakala on kasutatud arengubioloogilistes uuringutes, toksikoloogilistes ja toksikopatoloogilistes uuringutes, samuti on tema abil uuritud spetsiifiliste geenide funktsioone ja signaaliradade rolli (Govind 2011).

Aafrika küüniskonn, kodukana ja samuti ka teised selgroogsed mudelorganismid, näiteks rott ja ahvid, ei allu nii kergesti geneetilistele manipulatsioonidele kui hiir (*Mus musculus*), kellest on saanud imetajate olulisim mudelorganism. Hiir jagab inimestega samu arengustrateegiaid ning haigusi, sealhulgas vähki, ateroskleroosi, hüpertensiooni, diabeeti, osteoporoosi ja glaukoomi. Hiir on samuti peamiseks mudelorganismiks tüvirakkude uurimisel (Müller jt 2010). Hiirt kasutatakse väga laialdaselt biomeditsiinilistes uuringutes, eriti eritüübiliste haiguste uurimisel. Erinevalt rotirakkudest osatakse hiirerakke kasvatada koekultuuris, ilma et nad differentseeruksid. Hiirte mudelit kasutades on saadud ka võõraid geene sisaldavaid transgeenseid organisme ja organisme, kellel olid välja lülitatud üksikud geenid. Viimaseid nimetatakse 'nokauditud hiirteks'. Ka hiire genoom on sekveneeritud. See sisaldab  $2,9 \times 10^9$  nukleotiidipaari ja 25 369 geeni, mis asuvad kahekümnes kromosoomis. Seega on hiire geenide arv inimese omaga võrreldav ning teda saab kasutada eksperimentides, mida inimesega läbi viia ei saa või poleks eetiline (Heinaru 2012).

### 3. Genoomika uuringud samblikel

Kuigi samblikud on fenotüüpiliselt suhteliselt hästi kirjeldatud, on neid moodustavate sümbiontide uuringuid teostatud suhteliselt vähe. Lihheniseerunud seente genoomi täpsemate uuringutega alustati mõned aastad tagasi (Grube jt 2014). Samblikega seotud eksperimentaalsetel töödel on nii eeliseid kui puuduseid. Talluse proove on loodusest kerge koguda ning võimalik on analüüsida kogu tallust. Sümbiontse organismi puhul on oluline nii mükobiondi kui fotobiondi individuaalne uuring, millega kaasnevad aga raskused sümbiontide isoleerimise ja liitorganismi kasvatamise osas. Samblike mükobiontide ja fotobiontide vahel valitseb obligaatne sümbioos ja liitorganismi on peale sümbiontide isoleerimist väga raske *in vitro* taastada ja kasvatada. Sageli askosporid idanevad alles peale pikaajalist puhkeperioodi. Kui mükobiont on söötme pinnale seondunud, siis tema edasine kasv on aeglane ja madala metaboolse tootlikusega samuti on ta väga suure vastuvõtlikusega igasugusele saastusele. Paljud fotobiontidest sümbiondid kasvavad kiiresti steriilse kultuurina, kuid nende isoleerimine võib siiski olla keeruline. Mõlemast sümbiootilisest partnerist iseseisva samblikutalluse *in vitro* uuesti sünteesimine on üks suuremaid väljakutseid eksperimentaalses lihheenoloogias aga isegi kui sümbiontide resüntees põhimõtteliselt õnnestub, siis iseloomuliku morfoloogiaga talluse arenemine standardsetes laboritingimustes sageli ebaõnnestub (Grube jt 2014). Talluse regeneratsioon on võimalik mõningatel juhtudel kui on tagatud oligotroofsed tingimused – näiteks kui kultuur kasvab steriliseeritud mullal, kuid ka siis võib areng võtta aastaid. Kultiveeritud samblike mükobionti on seetõttu keeruline kasutada paljudes standartsetes uuringutes. Näiteks võib olla keerukas saada adekvaatset hulka hulka biomassi DNA ja RNA eraldamiseks. Genoomi sekveneerimisel peaks kogu DNA kuuluma samasse genotüüpi, kuna polümorfismi esinemine võib raskendada genoomi kokkupanekut. See tähendab, et *in vitro* kultuurides peaks DNA eraldamine toimuma samast algmaterjalist või siis geneetiliselt identsetest kotteostest (Grube jt 2014). Harilikku seinakorpa moodustavale seenele *Xanthoria parietina* on iseloomulik iseviljastumine (*self-fertile breeding system*), seetõttu on ka hõlpsam luua uusi kultuure sama talluse askosporidest ning eraldada neist DNA-d. See on ka üks põhjuseid, miks *Xanthoria parietina* on valitud genoomi uuringute objektiks. Mitmed lihheniseerunud seente geneetilised uurimustööd on tehtud looduslikult kasvavast tallusest DNA eraldamisega, kasutades nn. metagenoomset DNA-d. Samblike tallusega tehtavad tööprotsessid tuleks läbi viia võimalikult kiiresti, et vähendada korjamise järgselt talluses tekkida võivaid bioloogilisi muutusi. See on väga



oluline geeniekspressiooni ja transkriptsiooni ning samuti ka mikroobikoosluste uuringute läbiviimisel. Samblikud on poikilohüdrilised ehk kõiguniiskuselised, seetõttu tuleb geeni ekspressiooni analüüsi läbiviimisel hoolikalt jälgida talluse niiskusesisaldust. Mõistmaks geenide avaldumise mustrit, tuleb analüüs viia läbi maksimaalsetes niiskuse tingimustes. Piisava hulga RNA eraldamine võib olla probleemne, kuna lihheniseerunud seente metabolism on väga aeglane (Grube jt 2014). Lihheniseerunud seente molekulaargeneetilistes uuringutes on kasutatud nii laboratoorselt puhaskultuurina kasvatatavate mükobiontide kui ka looduses kasvavate samblikutalluste DNA-d. Kuigi laboris kasvatatud mükobiondid on uuringuteks sobilikumad, on geneetilistes analüüsides *in vitro* paljudatud mükobionte kasutatud vaid mõnevõrra, peamiselt seetõttu, et neid on keeruline luua ja kasvatada (Grube jt 2014). Enamik uuringuid tugineb samblikutallusest eraldatud metagenoomsele DNA-le. Metagenoomse DNA ja takson-spetsiifiliste praimerite või proovide kasutamine annab uuringutele kiired vastused. Vastupidiselt- puhaskultuuride loomisega kaasnevad pikaajalised uuringud – näiteks kui küsimuseks on sümbiontide eristamine ja seejärel sümbiontse talluse areng (Grube jt 2014). Enamus seniseid lihheniseerunud seente sümbioosi molekulaarbioloogilisi uuringuid on läbi viidud fülogeneetilises kontekstis, mille eesmärgiks on olnud luua evolutsiooniline raamistik, samuti ka koguda informatsiooni sümbiontide spetsiifilisuse kohta. Genoomika uuringuid on tehtud veel üsna vähe. Edusammuks on olnud mõnede geenide iseloomustamine. Huviäratavaks rühmaks on geenid, mis on seotud polüketiidide biosünteesiga, sest lihheniseerunud seened teatavasti sünteesivad suurel hulgal mitmesuguseid sekundaarseid samblikuaineid. Polüketiidide süntaasi geenid on vastutavad depsiidide ja depsidoonide produktsiooni eest. Depsiidid ja depsidoonid on polüketiididest lähtuvad sekundaarsed samblikuained, mis on tüüpilised lihheniseerunud seentele, kuid mida ei leidu looduses teistes organismides. Polüketiidide biosünteesiga seotud geenide uurimiseks on kasutatud polümeraasiahelreakstiooni ehk PCR-i. Kuigi genoomiraamatukogude konstrueerimine on praeguseks laialt levinud, on seda kasutatud vaid mõnedes lihheniseerunud seente uuringutes. Üheks põhjuseks on probleemid kõrge kvaliteediga ja massiga DNA saamisel. Teine põhjus on seotud raamatukogu suurusega. Kuigi mükobiondilt pärineb suur osa biomassist, võivad fotobiont ja teised seotud organismid anda juurde DNA-d ja seeläbi tõsta vajalikku kloonide hulka. Teadlaste hulgas ei valitse üksmeelt genoomi uuringute mudelorganismi osas, samblike moodustavate seente seas. Käesoleval ajal viiakse läbi mitmeid sambliku sümbiontide genoomi sekveneerimise projekte, kus kasutatakse kas kultiveeritavaid sümbionte või looduses kasvavaid talluseid (Grube jt 2014).

## 4. Mudelorganismide võimalikud kandidaadid samblike hulgas

Järgnevalt teen ülevaate võimalikest mudelorganismide kandidaatidest samblikke moodustavate seente hulgas. Mudelorganismide kandidaatideks olen valinud: *Xanthoria parietina* (harilik seinakorp), *Lobaria pulmonaria* (harilik kopsusamblik), *Peltigera membranacea* (õhuke kilpsamblik) ja *Cladonia grayi* (Gray porosamblik).

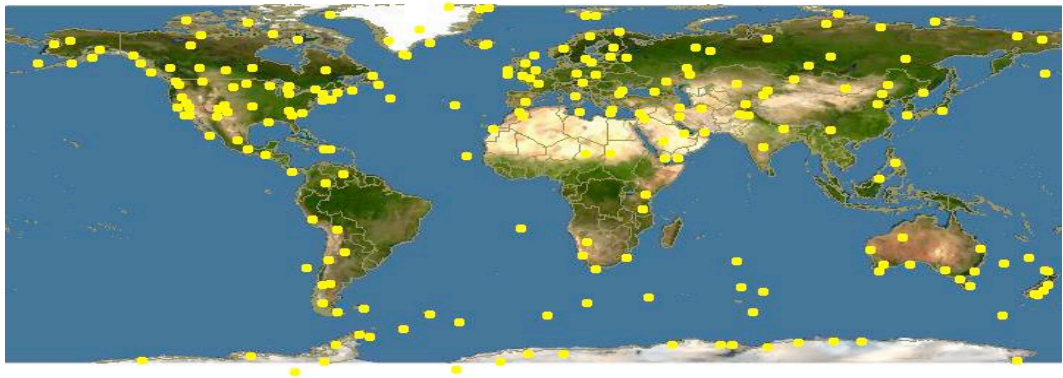
### 4.1. *Xanthoria parietina* – harilik korpsamblik, harilik seinakorp

**Iseloomulikud tunnused:** *Xanthoria parietina* tallus on selgelt lehtjas, 2-10 (20) cm läbimõõdus, kollane kuni kollakasoanž, harva oranžikaspunane või hallikas. Hõlmad õhukesed ja lamedad, 1-5 mm laiad, omavahel liitunud ja tihedalt substraadile liibunud. Hõlmaservad lainjad, sopilised ja mõnevõrra tõusvad. Talluse keskosas võivad mõnikord esineda kumerad hõlmakesed. Soraalid ja isiidid puuduvad Apoteetsiume esineb talluse keskel, enamasti arvukalt, on kuni 5mm läbimõõdus, oranžikaskollase, lameda või veidi nõgusa ketta ja kitsa, vanematel apoteetsiumidel peaaegu kaduva servaga. Pükniide esineb väga harva, nad asetsevad talluse pinnal 0,2-0,3 mm laiuste oranžikaspunaste näsakestena üksikult või rühmiti. Nii talluse kuju kui värvus varieerub väga laiades piirides (Trass jt 1994). *Xanthoria parietina* kasvab aastas umbes 5-7 mm (Nimis jt 2002).

**Fotobiont:** Rohevetikas *Trebouxia* (Trass jt 1994).

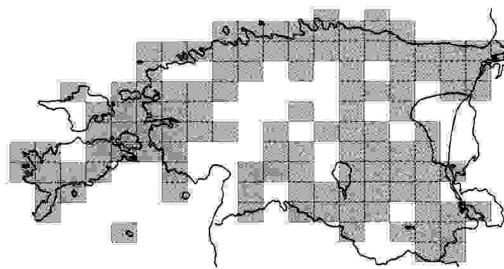
**Keemia:** Tallus K+ kirsipunane. Sisaldab parietiini (Randlane jt 2011).

**Levik:** Kosmopoliitse levikuga, teada kõigilt mandritelt (joonis 1). *Xanthoria parietina* toodi Austraaliasse ja Uus-Meremaale, kus ta kasvab kõrvuti morfoloogiliselt sarnaste looduslike liikidega. Molekulaarbioloogiliste analüüside käigus, kus võrreldi Austraalias kasvava *Xanthoria parietina* eksemplare teistelt neljalt kontinendilt pärinevate näidistega, ilmnes, et arvatavasti on Austraalias kasvav *Xanthoria parietina* pärit Lõuna-Euroopast (Itten jt 2010).



**Joonis 1.** *Xanthoria parietina* levik maailmas (<http://www.discoverlife.org>)

Ka Eestis on *Xanthoria parietina* väga sage kogu alal, sealhulgas linnades ja loomakasvatushoonete läheduses (Randlane jt 2015) (joonis 2).



**Joonis 2.** *Xanthoria parietina* levik Eestis (Randlane jt 2015)

**Ökoloogia:** Laia ökoloogilise amplituudiga, kasvab puidul, puukoorel, kividel, betoonil, leidub ka linnades ja loomakasvatushoonete läheduses (Trass jt 1994; Randlane jt 2011; 2015). *Xanthoria parietina* esineb sageli kõrge lämmastiku tasemega piirkondades. Ta on nitrofiilne liik ja uuringute käigus on näidatud, et ta akumulereib lämmastikku kui ta siirdatakse aammooniumiga reostatud piirkonda. Samuti on teada, et *Xanthoria parietina* fotobiont kohaneb aastaajaliste päikesekiirguse muutustega (Pindaru jt 2013).

**Uurituse tase:** Kasutades *in vitro* sünteesitud samblikutallust on uuritud mükobiondi hüdrofobiini ja paardumistüübi (*mating-type*) (*MAT*) geene (Grube jt 2014). Uuringud *MAT* geenide kohta aitavad kaasa samblikke moodustavate kottseente paljunemise uurimisele. *Xanthoria parietina* on

iseviljastuv (*homothallic*). *MAT* geenid on samuti sobivad markerid fülogeneetilisteks analüüsideks (Scherrer jt 2005). Uurimisasutus *Joint Genome Institute* Ameerika Ühendriikidest on hiljuti kokku pannud *Xanthoria parietina* täisgenoomi, genoomi arvatav suurus on ~ 32Mb (Grube jt 2014). Teostatud on RNA sekveneerimine, et võrrelda geeniekspressiooni puhaskultuurina kasvanud seenel ja sümbiootiliselt seotud mükobiondil. Selle uuringu käigus saab identifitseerida geene, mis erinevalt ekspresseeruvad ja seetõttu võivad olla seotud sümbioosiga (Grube jt 2014).

**Miks sobib mudelorganismiks?** *Xanthoria parietina* on samblikke moodustavate seente hulgast pakutud mudelorganismide hulka, kuna ta on laialt levinud, tal on iseloomulik kihistunud ehk heteromeerne talluse anatoomia, teda on võimalik laboratoorselt kasvatada ning ta on üks kõige enam uuritud lihheniseerunud seeni. Genoomi analüüs peaks pakkuma uusi teadmisi mitmete bioloogiliste fenomenide (mutualistlik sümbioos, kohanemine karmides tingimustes, sekundaarne metabolism, seente paljunemine, lihheniseerunud seente kasvumäära kontrollimine) kohta (JGI MycoCosm The Fungal Genomics Resource Doe Joint Genome institute).

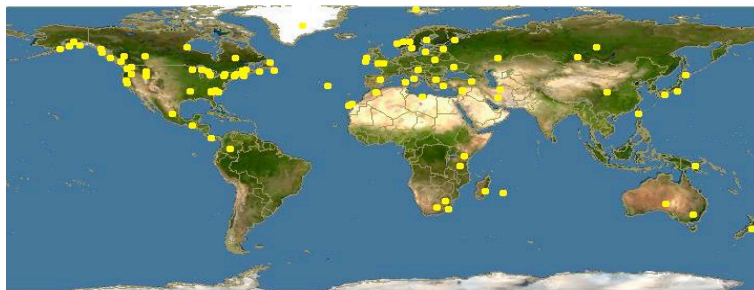
#### **4.2. *Lobaria pulmonaria* – harilik kopsusamblik**

**Iseloomulikud tunnused:** Tallus on keskmine või suur, kuni 30 cm läbimõõdus, ebaühtlaselt või enam-vähem dihhotoomselt, mitmekordselt jagunenud, sügavalt lõhestunud hõlmadega. Hõlmatipud kandilised, tõmbid, harvem ümardunud. Talluse ülapiiril hallikas- või oliivroheline kuni pruun, vahel servas härmakihiga, selgelt roideline, lohklik. Talluse servas ja ribide (lohkudevaheliste vallide) peal paiknevad valged kuni pruunikad, ümarad või ebamäärase kujuga, sageli isiidistuvad soraalid. Soraale on enamasti palju, harva üksikuid. Alapoollel selgelt eristatavad ülapiirna lohkuidega kohakuti asetsevad heledad, helepruunid kuni valkjaskollased paljad laigud ja nende vahelised tumepruunid vildikihiga kaetud võrgustikku moodustavad ribid. Ritsiinid tumepruunid, lihtsad või tutjad. Apoteetsiumid paiknevad talluse serval ja ribidel, kuni 4 mm laiused, ketas punakaspruun. Eosed valminutena 4-rakulised, värtenjad, värvusetud kuni kahvatupruunid, 26-32x7-10 µm. Pükniidid paiknevad roietel, puuduvad roietevahelistes lohkuides (Trass jt 1994).

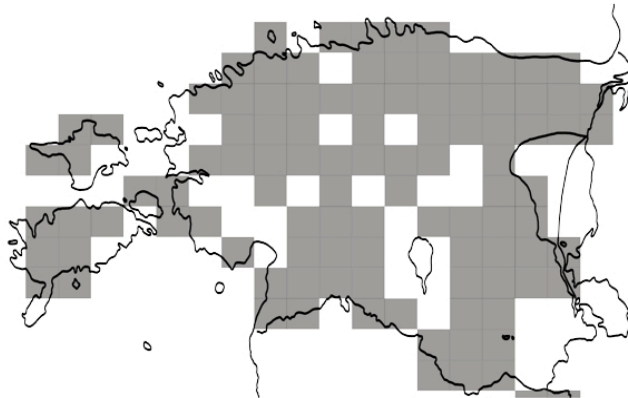
**Fotobiont:** Peamine fotobiont on rohevetikas *Dictochloropsis reticulata* (Grube jt 2012). Südamikukihis leidub sisemisi, tsüanobakterit *Nostoc* sisaldavaid tsefaloode (Trass jt 1994). Kui *D. reticulata* varustab lihheniseerunud seent fotosünteesi käigus tekkivate ainete, siis lämmastiku varu tagavad talluses asuvad tsüanobakterite kolooniad (Grube jt 2012).

**Keemia:** Südamikukiht K+ kollane, KC–, P + oranž. Tallus sisaldab stikthapet ja selle satelliitaineid (Randlane jt 2011).

**Levik ja ökoloogia:** Laialt levinud kogu põhjapoolkeral (Dal Grande jt 2012; Grube jt 2014). Teda võib vähesel määral leida ka lõunapoolkeral (joonis 3); kahekümnendal sajandil on üle elanud tõsise languse mitmetes Kesk-Euroopa riikides (Dal Grande 2009) ning on praegu erinevate ohukategooriate liik paljudes rahvuslikes punastes nimekirjades, sealhulgas Eestis (Mikryukov jt 2010; Randlane jt 2008). Eestis teada üle 400 leiukoha (joonis 4), kuid üldiselt on populatsioonid väikesed ja killustunud, praegused kasvukohad hävivad metsamajanduse tõttu (Randlane jt 2011).



Joonis 3. *Lobaria pulmonaria* levik maailmas (<http://www.discoverlife.org>)



Joonis 4. *Lobaria pulmonaria* levik Eestis (Randlane jt 2011)

**Ökoloogia:** Nemoraalne liik. Kasvab puutüvedel, eelistab lehtpuid (Eestis sageli haaval, tammel, jalakal, sarapuul, harvem kasel, pihlakal, vahtral ja pärnal jne), vahel ka okaspuudel (Eestis kuusel). Kasvukohtadest eelistab laialehelisi metsi, kuuse-segametsi, lodumetsi, puisniite, kasvab ka

rabastuvates metsades (Trass jt 1994).

**Looduskaitseline seisund:** LK III; EPN – ohulähedane (Randlane jt 2011)

**Uurituse tase :** *Lobaria pulmonaria*’t on kasutatud mudelorganismina uuringus, kus tegeldi samblike erinevate levimisviiside osakaalude väljaselgitamisega ja levimise ruumiliste piirangutega. Harilik kopsusamblik oli selliseks uuringuks sobiv seetõttu, et tal esineb nii seksuaalne kui aseksuaalne paljunemine (Walser 2004).

**Miks sobib mudelorganismiks?** *Lobaria pulmonaria* on uuringute käigus kujunenud oluliseks mudelorganismiks oma ülemaailmse leviku tõttu, bioindikaatorina kasutamise tõttu ja seetõttu, et esindab epifüütseid krüptogaame looduskaitselistes uuringutes (Dal Grande jt 2009). Sobib mudelorganismiks veel ka seetõttu, et on kolmeliikmelise sümbioosi tüüpiline näide, kus sambliku fotobiontideks on nii rohevetikas *Dictochloropsis reticulata* kui ka tsefaloodides sisalduv tsüanobakter *Nostoc* (Tunić jt 2013).

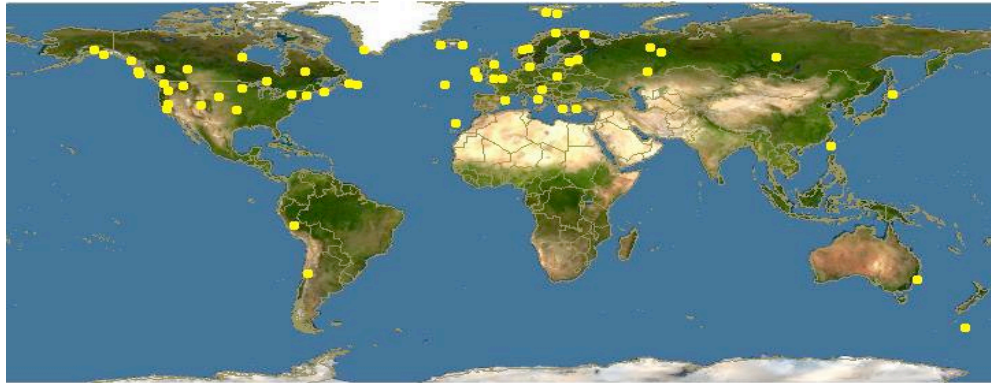
#### **4.3. *Peltigera membranacea* – õhuke kilpsamblik**

**Iseloomulikud tunnused:** Tallus keskmine või suur, kuni 20 (30) cm läbimõõdus, õhuke, paberjas. Hõlmad kuni 6 (8) cm laiad, reegilina mitte kitsamad kui 1,5 cm, lamavad või pisut tõusvad, steriilsete hõlmade servad tihti allakäändunud. Talluse ülapiiril rohekashall, hall, pruunikashall või helepruun, keskel tuhm või läikiv, servaosas lamendunud ja keerdunud hüüfiotstest koosneva vildikihiga, ilma härmakihita, vahel hõlmaservades või koorkihi vigastuste ümbruses regeneratsiooniloobulitega. Talluse alapoolnii serva- kui keskosas selge reljeefse, viltja, kohati turriskarvalise soontevõrguga. Sooned servas valged või kollakad, keskel valged, hallid, helepruunid või määrdunudpruunid. Soontevahed soontega võrreldes märgatavalt laiemad, valged kuni kollakad. Valdav osa ritsiine paljude lühikeste külgharudega, pudeliharjakujulised, osa ritsiine võivad olla lihtsad, harva väheharunenud või põõsasjad. Apoteetsiumid paiknevad ahenenud tõusvate hõlmade tippudel, on allakäändunud servadega, kuni 10 mm läbimõõdus, ketas punakaspruun (Trass jt 1994).

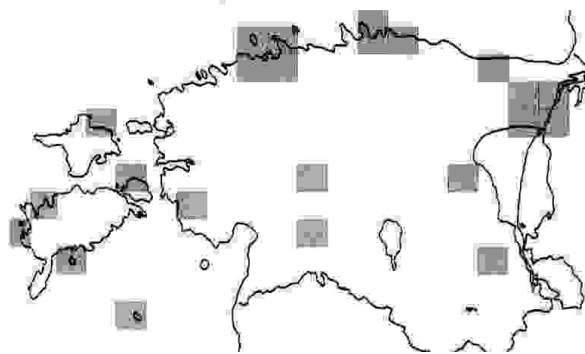
**Fotobiont:** Tsüanobakter *Nostoc* (Trass jt 1994).

**Keemia:** Diagnostiliselt olulisi samblikuaineid liigid ei sisalda, tallused värvusreaktsioone ei anna. (Trass jt 1994).

**Levik:** Maailmas laialdaselt levinud parasvöötmes (joonis 5); Eestis hajusalt kogu alal (Trass jt 1994; joonis 6).



**Joonis 5. *Peltigera membranacea* levik maailmas**  
(<http://www.discoverlife.org>)



**Joonis 6. *Peltigera membranacea* levik Eestis (Randlane jt 2015)**

**Ökoloogia:** Kasvab maapinnal, samblal, puude jalamil, sammaldunud kivil (Trass jt 1994).

**Uurituse tase:** *Peltigera membranacea* on sekveneeritud metagenoomselt, sisaldades mitte ainult mükobiondi (38Mb) ja fotobiondi *Nostoc* (9Mb) genoomi, vaid ka nendega seonduvate bakterite genoomi (Grube jt 2014). Uuritud on *Peltigera membranacea* seost bakteritega (Sigurbjörnsdóttir jt 2015). *Peltigera* liike on kasutatud mudelitena lektiinide uuringutes, mille käigus on eristatud sümbioosis olevaid tsüanobakter *Nostoc* liike kultiveeritavatest. Arvatakse, et samblikku moodustavad seened tunnevad neile sobiva fotobiondi ära lektiinide abil (Manoharan jt 2012). Lektiinid on laialdane grupp süsivesikutega seondunud valke, mis on sageli seotud rakuliste interaktsioonidega. *Peltigera membranacea*l on leitud ja iseloomustatud *lec-1* geen, mis on

mükobiondilt pärinev geen (Manoharan jt 2012) . Uuringud on näidanud, et *lec-1* geeni ekspressioon on mõjutatud fotobiondi poolt. Fotobiontide ära tundmine lektiinide poolt mõjutab sümbioosi teket (Miao jt 2012).

**Miks sobib mudelorganismiks:** *Peltigera membranacea* on sekveneeritud metagenoomselt (Grube jt 2014). Uuritud on *Peltigera membranacea* seost bakterikooslustega (Sigurbjörnsdóttir jt 2015). Lekiini rolli samblikke moodustavatel seentel on uuritud perekonda *Peltigera* kuuluvate samblikke moodustavate seente abil (Miao jt 2012).

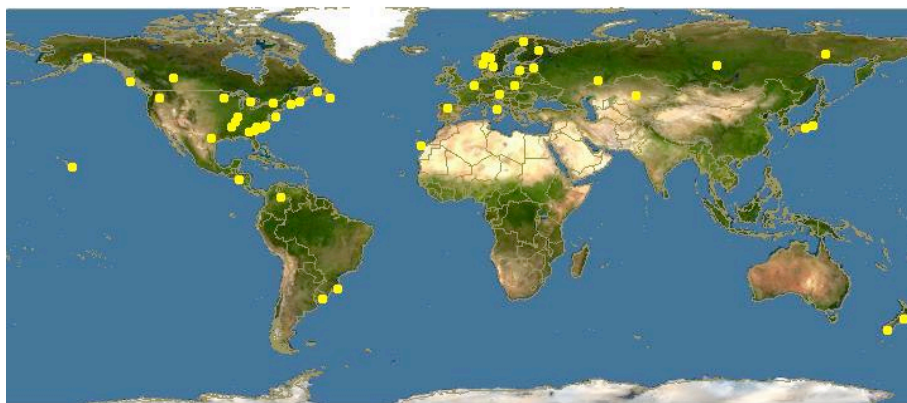
#### 4.4. *Cladonia grayi* – Gray porosamblik

**Iseloomulikud tunnused:** *Cladonia grayi* kuulub *Cladonia chlorophaea* keemiliste liikide rühma. Esitalluse soomused 2-8 mm pikkused, tõusvad, ülalpool hallikas, alalpool valge, moodustavad sageli kauapüsivaid tihedaid kogumikke. Kitsad, sageli serva proliferatsioonidega karikad, podeetsiumite alusel on sageli esinevad füllokaadid (Trass jt 1994). Podeetsiumite ülaosa hallikasroheline, terajate soreedidega, peaaegu täiesti koorkihita, alaosa kühmudena laialipaisatud koorkihiga. Apoteetisumid tumepruunid, 1-4mm läbimõõdus, asuvad karikate servades (Trass jt 1994).

**Fotobiont:** Rohevetikas *Asterochloris*; fotobiondi genoom on samuti sekveneeritud, suurusega 56 Mb (Grube jt 2014).

**Keemia:** Sisaldab graiaanhapet, vahel ka fumaarprotrotsetraarhapet, K–, P– või P+ punaseks (Trass jt 1994).

**Levik:** Kõikidel kontinentidel (joonis 7); Eestis hajusalt kogu alal (joonis 8).



Joonis 7. *Cladonia grayi* levik maailmas (<http://www.discoverlife.org>)





**Joonis 8. *Cladonia grayi* leiukohad Eestis (<http://elurikkus.ut.ee/>)**

**Ökoloogia:** Epigeiid, kasvab peamiselt maapinnal, kuid ka puude jalamitel (Trass jt 1994).

**Uurituse tase:** Sellel samblikul on sekveneeritud nii mükobiondi (34Mb) kui ka fotobiondi *Asterochloris* genoom (56Mb) (Grube jt 2014). *Cladonia grayi*'d on kasutatud *CgrPKS16* geenide uuringus (Armaleo jt 2011). On teada, et polüketiidsüntaasi geen *CgrPKS16* on seotud samblike moodustavates seentes depsidoon graiaanhappe produtseerimisega (Grube jt 2014). Samuti on *Cladonia grayi* abil uuritud metüülammooniumpermeaasi horisontaalset geenide ülekannet prokarüootide ja *C. grayi* vahel (Grube jt 2014; Mc Donald jt 2012).

**Sobivus mudelorganismiks:** *Cladonia grayi* on seni ainus samblik, kel nii mükobiondi kui ka fotobiondi genoom on täielikult sekveneeritud (Grube jt 2014).

## 5. Kokkuvõte

Mudelorganismid on organismid, keda kasutatakse mudelitena erinevate bioloogiliste protsesside kirjeldamiseks. Mudelorganismide puhul on oluline see, et saadavad tulemused peaksid olema ülekantavad ka teistele organismidele või aitama kirjeldada ka teistes organismides toimuvaid protsesse. Tavaliselt on nad väikese suurusega, neid on kerge säilitada, nad on lühikese generatsiooniajaga ning neid on kerge kultiveerida ja teostada sõeluuringuid. Mudelorganisme leidub erinevates organismirühmades, nii prokarüootide kui eukarüootide – protistide, seente, taimede ja loomade – hulgas. Eelmise sajandi erinevatel etappidel on olnud erinevad lemmik-mudelorganismid; sel ajal võib eristada kolme mudelorganismide kasutamise etappi. Näiteks esimesel etapil (1910-1937) olid hiir, mais ja äädikakärbes kõige silmapaistvamad ja enim kasutatud mudelorganismid. Teisel etapil (1930-1950ndad aastad) pöördus teadlaskonna tähelepanu mikroorganismidele, näiteks bakterile *Escherichia coli* (soolekepike) ja seentele – *Neurospora crassa* (leivahallitusseen), *Aspergillus nidulans* (hallitusseen) ja *Saccharomyces cerevisiae* (pagaripärm). Peale 1960ndaid ilmnis geneetikutel huvi loomade ja taimede viiruste, imetajate kultiveeritud rakkude ja hulkraksete organismide vastu. Kõige silmapaistvamad mudelorganismid sel etapil olid *Caenorhabditis elegans* (varbuss) ja *Arabidopsis thaliana* (müürlook).

Samblikke moodustavate sümbiontide uuringuid on veel üsna vähe tehtud, samuti on samblikke moodustavate seente genoomikast suhteliselt vähe teada. Laboratoorsetes tingimustes on samblikke kasvatada keeruline, peale sümbiontide isoleerimist on liitorganismi väga raske *in vitro* taastada ja kasvatada, ning see on olnud eksperimentaalses lihheonoloogias üheks suurimaks väljakutseks. Genoomi uuringutes võib raske olla eraldada adekvaatset hulka DNA ja RNA biomassi. Sekveneerimisel peaks DNA kuuluma ühte genotüüpi, see kergendaks genoomi kokkupanekut.

Harilikku seinakorpa moodustavale seenele *Xanthoria parietina* on iseloomulik iseviljastumine (*self-fertile breeding system*), ning seetõttu on ka tema askosporidest hõlpsam eraldada DNA-d ning luua uusi kultuure. See on üheks põhjuseks, miks *X. parietina* on sobiv genoomi uuringute mudelorganismiks. Samuti on seda liiki kasutades uuritud hüdrofobiini ja paardumistüübi *MAT* geene. Oluline on ka see, et *Xanthoria parietina* on ülemaailmselt levinud.

Harilikku kopsusamblik *Lobaria pulmonaria* sobib mudelorganismiks seetõttu, et on kolmeliikmelise sümbioosi tüüpiline näide, kus sambliku fotobiontideks on nii rohevetikas kui ka tsefaloodides sisalduv tsüanobakter. Lisaks esineb tal nii seksuaalne kui aseksuaalne paljunemine,

ta on ülemaailmselt levinud ja kasutusel bioindikaatorina.

Õhukest kilpsamblikku *Peltigera membranacea* on uuritud seoses mikroobikooslustega. *Peltigera* perekonna liigid on olnud olulised ka leukiinide uurimisel.

Gray porosamblikul on sekveneeritud nii mükobiondi kui ka fotobiondi genoom ja tema abil on uuritud geenide horisontaalset ülekannet prokarüootide ja seene vahel.

Kokkuvõttes võib öelda, et kõik neli vaadeldud samblikku vääriskid mudelorganismi staatust, kuna nedega on läbi viidud olulisi uuringuid, mis annavad infot üldiste protsesside kohta sümbiontsetel organismidel.

## 6. Summary

Model organisms are organisms which are used as models to describe different biological processes. It is important that results achieved with model organisms can be transferred to other organisms or help to describe the processes taking place in other organisms. Usually the model organisms are small, easy to maintain, they have short generation time, easy to isolate and make screening tests. Model organisms are found in several groups of organisms, among prokaryotes and eukaryotes – protists, fungi, plants and animals. During last century, different model organisms have been favoured during different time periods. Three periods of the use of model organisms were distinguished then. For example, in the first period (1910-1937) mouse, *Drosophila*, and corn were the most prominent and most widely used model organisms. In the second period (1930-1950s), attention turned to the research of micro-organisms, such as bacteria *Escherichia coli* and fungi *Neurospora crassa*, *Aspergillus nidulans* (mold) and *Saccharomyces cerevisiae* (baker's yeast). After the 1960s genetics showed interest in animal and plant viruses, in cultured mammalian cells and multicellular organisms. The most prominent model organisms of that period were *Caenorhabditis elegans* and *Arabidopsis thaliana*.

Quite a few studies dealing with the symbionts of lichens have been made till now and little is known about lichen genomics. To grow lichens in laboratory conditions is complicated. The complex organism is difficult to resynthesize and grow *in vitro*, this has been a big challenge in experimental lichenology. In genome studies it is sometimes difficult to isolate adequate biomass of RNA and DNA. Sequencing DNA, it should belong to the same genotype as this helps to complete genome.

*Xanthoria parietina*, one of the candidates for the title of model organism among lichens, is characterized by self-fertile-breeding system and thus it is easier to isolate DNA from ascospores and make new cultures. This is one reason why *Xanthoria parietina* is suitable as a model for genome studies. *Xanthoria parietina* has been used also for studies of hydrophobin and mating type (MAT) genes. It is also important that *Xanthoria parietina* is common worldwide.

The lung lichen *Lobaria pulmonaria* fits as a model organism because it is a typical example of symbiosis consisting of three parts, where both green algae and cyanobacteria (situated in cephalodes) act as photobionts. Furthermore, *Lobaria pulmonaria* has asexual and sexual reproduction system, it is common worldwide and has been used as a bioindicator.

*Peltigera membranacea* has been an important target for leucine studies. It has also been studied in relation to microbial communities.

In *Cladonia grayi*, both myco- and photobiont genomes have been sequenced. In addition, horizontal gene transmission between procaryotes and fungi has been researched using this species. In conclusion, all four taxa of lichenized fungi which I examined could be used as model organisms, because they have been targets in significant studies which are informative concerning symbiotic organisms.

## **Tänuavaldused**

Täna juhendaja Tiina Randlast suure abi eest bakalaureusetöö juhendamisel.

## 7. Kasutatud kirjandus:

- Armaleo, D., Sun, X., Culberson, C. 2011. Insights from the first putative biosynthetic gene cluster for a lichen depside and depsidone. – *Mycologia* 103 (4): 741-754.
- Cooper, G. M., Hausman, R. E. 2009. *The Cell: A Molecular Approach*, Fifth Edition. – ASM Press.
- Dal Grande, F., Widmer, I., Wagner, H. H., Scheidegger, C. 2012. Vertical and horizontal photobiont transmission within populations of a lichen symbiosis. – *Molecular Ecology* 21: 3159-3172.
- Dal Grande, F., Widmer, I., Beck, A., Scheidegger, C. 2009. Microsatellite markers for *Dictyochloropsis reticulata* (*Trebouxiophyceae*), the symbiotic alga of the lichen *Lobaria pulmonaria* – *Conservation Genetics* 11: 1147-1149.
- Govind, P. 2011. Model organisms used in molecular biology or medical research. – *International Research Journal of Pharmacy* 2: 62-65.
- Grube, M., Berg, G., Anr sson,  .S., Vilhelmson, O., Dyer, S.P., Miao, V.P.W. 2014. Lichen Genomics: Prospects and Progress. In: Martin, F.(ed.), *The Ecological Genomics of Fungi*, First Edition, John Wiley & Sons, Inc, pp 191-212.
- Grube, M., Spribille, T. 2012. Exploring symbiont management in lichens. – *Molecular Ecology* 21: 3098-3099.
- Heinaru, A. 2012. *Geneetika*. – Tartu  likool Kirjastus.
- Itten, B., Honegger, R. 2010. Population genetics in the homothallic lichen-forming ascomycete *Xanthoria parietina*. – *The Lichenologist* 42 (6): 751-761.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., Stalpers, J. A. 2008. *Dictionary of the fungi*, Tenth edition. – CAB International.
- Leonelli, S., Ankey, R.A. 2013. What Makes a Model Organism? *Endeavour* 37: 209-212.
- Manoharan, S. S., Miao, V. P. W. 2012. *LEC-2*, a highly variable lectin in the lichen *Peltigera membranacea*. – *Symbiosis* 58: 91-98.
- McDonald, T. R., Dietrich, F. S., Lutzonil, F. 2011. Multiple Horizontal Gene Transfers of Ammonium Transporters/Ammonia Permeases from Prokaryotes to Eukaryotes: Toward a New Functional and Evolutionary Classification. – *Molecular Biology and Evolution*.29(1): 51-60.

- Miao, V. P. W., Manoharan, S. S., Snæbjarnarson, V., Andr sson,  . S. 2012. Expression of *lec-1*, a mycobiont gene encoding a galectin-like protein in the lichen *Peltigera membranacea*. – Symbiosis 57(1): 23-31
- Mikyukov, V.S., Mikhailova, I. N., Scheidegger, C. 2010. Reproductive Parameters of *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.in the Urals. – Russian Journal of Ecology 41 (6): 475-479.
- Müller, B., Grossniklaus. U. 2010. Model organisms – A historical perspective. – Journal of Proteomics 73: 2054-2063.
- Nimis, P. L., Scheidegger, C., Wolseley, P. A. 2002. Monitoring with Lichens. Monitoring Lichens. – Kluwer Academic Publishers
- P curar, D. I. 2009. Model organisms – a journey from the dawn of biological research to the post-genomic era. – Romanian Biotechnological Letters 1: 4087-4094.
- Pindaru, D.M., Tanase, C., Olariu, R.I., Arsene, C. 2013. Chemical Composition and Ions Concentration in *Xanthoria parietina* and *Phaeophyscia orbicularis* Lichenised Fungi Species from Iasi, North -Eastern Romania. – Revista de Chimie 64 (8): 808-814.
- Primack, R. B., Kuresoo, R., Sammul, M., 2008. Sissejuhatus looduskaitsebioloogiasse. Eesti Loodusfoto.
- Randlane, T., J riado, I., Suija, A., L hmus, P., Leppik, E. 2008. Lichens in the new Red List of Estonia. Folia Cryptogamica Estonia 44: 113-120.
- Randlane, T., Saag, A., Martin, L., Timdal, E., Nimis, P. L. 2011. Eesti puudel kasvavad suursamblikud – Tartu  likool Kirjastus.
- Randlane, T., Saag, A., Martin, L., Marmor, L. 2015. Eesti kivil kasvavad suursamblikud. – Tartu  likool Kirjastus.
- Scherrer, S., Zippler, U., Honegger, R. 2005. Characterisation of the mating-type locus in the genus *Xanthoria* (lichen – forming ascomycetes, Lecanoromycetes). – Fungal Genetics and Biology 42: 976 – 988.
- Snustad, D. P., Simmons, M. J. 2010. Principles of Genetics, Fifth Edition. International Student Version. – John Wiley & Sons, Inc.
- Snustad, D. P., Simmons, M. J. 2012. Genetics, Sixth Edition. International Student Version. – John Wiley & Sons, Inc.
- Sigurbjörnsdóttir, M. A., Andr sson,  . S., Vilhelmson, O. 2015. Analysis of the *Peltigera*





## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Triin Tago,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

“Mudelorganismide otsinguil”, mille juhendaja on Tiina Randlane

1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

**Tartu, 19.05.2016**

Lisad

**Lisa 1. Kasutatavaid mudelorganisme taimede hulgas** (<http://cshprotocols.cshlp.org/site/emo/järgi>)

Organismi nimi	Rakendusvõimalus mudelorganismina
<i>Antirrhinum majus</i> – harilik lõvilõug	Sobiv mudel taimede arengubioloogiliseks ja evolutsioonilise bioloogia uuringutes
<i>Ectocarpus</i> – (pruunvetikas)	Pruunvetikate mudelorganism
<i>Kalanchoë daigremontiana</i> – Daigermonti kalanhoe	Taimede asekuaalse paljunemise mudel
<i>Nematostella vectensis</i> – (meriroos)	Võrdleva genoomika ja funktsionaalevolutsioonilise arengubioloogia mudel
<i>Physcomitrella patens</i> – (sammaltaim)	Uus mudelsüsteem taimede arengubioloogiliseks ja geneetiliseks uuringuks.
<i>Solanum lycopersicum</i> – harilik tomat	Viljakandvate kultuuride mudelorganism

**Lisa 2. Kasutatavaid mudelorganisme loomade hulgas** (<http://cshprotocols.cshlp.org/site/emo/järgi>)

Organismi nimi	Rakendusvõimalus mudelorganismina
<i>Ambystoma mexicanum</i> – Mehhiko tõmpsuu	Regeneratsiooni, arengubioloogia ja evolutsioonilisteks uuringuteks kasutatav mudel
<i>Amphimedon queenslandica</i> – päriskäsn	Sobiv arengubioloogilisteks uuringuteks
<i>Astyanax mexicanus</i> – Mehhiko koopakala	Sobiv arengubioloogilisteks ja evolutsiooniliste protsesside geneetiliseks uuringuks
<i>Carollia perspicillata</i> – puuviljanahkhiir	Oluline mudel arengubioloogilistes (reproduktsiooni) uuringutes
<i>Cephalochordates</i> – süstikkala	Keelikloomade evolutsiooni uurimiseks kasutatav mudel
<i>Chrysemys picta</i> – värviline kilpkonn	Selgroogsete evolutsiooni, ökoloogia ja inimese tervisega uuringutega seotud mudel
<i>Coturnix japonica</i> – ida põldvutt	Transgeensete lindude mudel
<i>Ctenophora</i> – (kammloomad)	Sobiv mudel hulkraksete arengu uurimiseks

<i>Cuplennius salei</i> – (ämblik)	Oluline mudel embrüonaalsetes ja füsioloogilistes uuringutes
<i>Formicidae</i> – (sipelglased)	Sotsiaalse käitumise uurimisel kasutatavad mudelid
<i>Gryllus bimaculatus</i> – (kilk)	Sobiv mudel arengubioloogilisteks ja regeneratsiooni uuringuteks
<i>Helobdella</i> – (kaan)	Oluline mudel arengubioloogilistes uuringutes
<i>Ilyanassa obsoleta</i> – (mudatigu)	Sobiv mudelorganism arengubioloogilisteks uuringuteks
<i>Jaculus jaculus</i> – väike Egiptuse tipik	Näriliste evolutsioonilise bioloogia ja arengubioloogia mudel
<i>Macropus eugenii</i> – dama-vallabi	Sobiv mudel arengubioloogilisteks (reproduktsoon) uuringuteks
<i>Monodelphis domestica</i> – hall lühisaba-opossum	Sobiv mudel kukkurloomade uuringuks
<i>Nasonia</i> – (juveelherilane)	Geneetilistes uuringutes (soo määramine) kasutatav mudelorganism
<i>Octodon degus</i> – tavadeegu	Mudel võrdleva bioloogia ja biomeditsiinilistes uuringutes
<i>Paramecium tetraurelia</i> – (kingloom)	Molekulaarsetes uuringutes kasutatav mudelorganism
<i>Parhyale hawaiiensis</i> – (mererõngasuss)	Sobiv arengubioloogilisteks uuringuteks
<i>Petromyzon marinus</i> – merisutt	Oluline mudel arengubioloogilistes ja evolutsioonibioloogilistes uuringutes
<i>Plectus murrayi</i> – (Antarktika nematood)	Stressitingimuste uuringuks kasutatav mudel
<i>Pristionchus pacificus</i> – (nematood)	Geneetiline mudelsüsteem evolutsioonilise bioloogia uuringutes
<i>Schmidtea mediterranea</i> – (lameuss)	Regeneratsiooni molekulaarsete uuringute, täiskasvanute tüvirakkude regulatsiooni, vananemise ja käitumise uurimiseks kasutatav mudelorganism
<i>Scyliorhinus canicula</i> – koerhai	Oluline võrdleva anatoomia ja füsioloogia mudel
<i>Taeniopygia guttata</i> – sebraamadiin	Lindude mudelorganism, lauluõppimise neurobioloogiliste aluste tundmaõppimiseks
<i>Tribolium castaneum</i> – (jahumardikas)	Sobiv mudel arengubioloogilisteks ja kahjurite uurimiseks